

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Waterstaat
Mevrouw drs. S. van Veldhoven-van der Meer
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 04 december 2018
KENMERK CGM/181204-02
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie van de schimmel *Schizosaccharomyces japonicus*

Geachte mevrouw Van Veldhoven,

Naar aanleiding van een verzoek van de Technische Universiteit Delft om de schimmel *Schizosaccharomyces japonicus* op Bijlage 2 lijst A1 te plaatsen (IG18-215_2.13-000), deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd om te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de schimmel *Schizosaccharomyces japonicus* (syn. *Hasegawaea japonica* en *Octosporomyces japonicus*) en de plaatsing van deze schimmel op Bijlage 2, lijst A1 (apathogene gastheerorganismen) van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen'.

S. japonicus is een gist die wordt aangetroffen op plaatsen met een hoog suikergehalte en kan groeien bij hoge temperaturen (40°C). *S. japonicus* komt niet alleen voor als eencellige gist, maar kan onder nutriëntarme omstandigheden (stikstof gelimiteerd) ook lange filamenteuze schimmeldraden vormen.

Er zijn bij de COGEM geen aanwijzingen bekend dat de schimmel pathogeen is voor mens, dier of plant. De COGEM adviseert daarom *S. japonicus* in te delen in pathogeniteitsklasse 1 en op te nemen in Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo.



De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,

Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Voorzitter COGEM

c.c. Drs. H.P. de Wijs, Hoofd Bureau ggo
 Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenW

Pathogeniteitsclassificatie van de schimmel *Schizosaccharomyces japonicus* (syn. *Hasegawaea japonica* en *Octosporomyces japonicus*)

COGEM advies CGM/181204-02

1. Inleiding

Naar aanleiding van een verzoek van de Technische Universiteit Delft (IG18-215) is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de schimmel *Schizosaccharomyces japonicus* (syn. *Hasegawaea japonica* en *Octosporomyces japonicus*) en de plaatsing van deze schimmel op Bijlage 2, lijst A1 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).¹ Deze bijlage bestaat uit een lijst van gastheerorganismen die apathogeen zijn voor mens, dier of plant. Opname op Bijlage 2, lijst A1 betekent dat onder ML-I laboratoriumcondities met het betreffende organisme genetisch gemodificeerde organismen (ggo's) vervaardigd mogen worden indien hierbij vectoren worden gebruikt die wél, of inserties die níet, op de A-lijsten staan (respectievelijk 'lijst A2 veilige vectoren' en 'lijst A3 inserties'). Activiteiten met deze ggo's kunnen, zonder dat een aanvrager daar een milieurisicobeoordeling voor hoeft aan te leveren, direct na kennisgeving gestart worden.

2. Pathogeniteitsclassificatie Regeling ggo

Onder de ggo-regelgeving worden bij de pathogeniteitsclassificatie de risico's voor mens en milieu in oenschouw genomen. Daartoe worden in de Regeling ggo micro-organismen ingedeeld in vier pathogeniteitsklassen. Deze indeling start met pathogeniteitsklasse 1, die gevormd wordt door apathogene micro-organismen en loopt op tot pathogeniteitsklasse 4, de groep van hoog pathogene micro-organismen. Iedere pathogeniteitsklasse is gekoppeld aan een inperkingsniveau voor werkzaamheden met ggo's van die klasse.

Apathogene micro-organismen worden ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1. Dergelijke micro-organismen dienen minimaal aan één van de volgende criteria te voldoen:

- a) het micro-organisme behoort niet tot een soort waarvan vertegenwoordigers bekend zijn die ziekteverwekkend zijn voor mens, dier of plant;
- b) het micro-organisme heeft een lange historie van veilig gebruik onder omstandigheden waarbij geen bijzondere inperkende maatregelen worden getroffen;
- c) het micro-organisme behoort tot een soort die vertegenwoordigers bevat van klasse 2, 3 of 4, maar de stam in kwestie bevat geen genetisch materiaal dat verantwoordelijk is voor de virulentie;
- d) van het micro-organisme is het niet-virulente karakter door middel van adequate tests aangetoond

Een indeling in pathogeniteitsklasse 2 is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een ziekte kan veroorzaken, waarvan het onwaarschijnlijk is dat het zich onder de populatie

verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is, alsmede een micro-organisme dat bij planten een ziekte kan veroorzaken.

Een indeling in pathogeniteitsklasse 3 is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een ernstige ziekte kan veroorzaken, waarvan het waarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is.

Een indeling in pathogeniteitsklasse 4 is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een zeer ernstige ziekte kan veroorzaken, waarvan het waarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er geen effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is.

Taxonomie schimmels

Schimmels vormen het rijk der Fungi. Het merendeel van de beschreven schimmels valt binnen de fyta Ascomycota en Basidiomycota.² Omdat er veel schimmels zijn die zowel een geslachtelijk (teleomorf) als een ongeslachtelijk (anamorf) stadium hebben en zij er in deze stadia verschillend uitzien, hebben verscheidene schimmels in het verleden meerdere soortnamen gekregen. In 2011 is door het 'International Botanical Congress' besloten dat het tot dan toe gebruikelijke duale nomenclatuursysteem van schimmels zou komen te vervallen en dat vanaf januari 2013 één schimmel slechts één naam mag hebben.³ Momenteel bevindt het nomenclatuursysteem van schimmels zich in een overgangssituatie waarbij de nieuwe naamgeving nog niet altijd consistent is doorgevoerd.

De taxonomie van schimmels is complex. Mede door de toenemende informatie over genomesequenties is de taxonomie aan verandering onderhevig. Dit vraagt om een zorgvuldige identificatie van de te gebruiken schimmelsoort.

4. *Schizosaccharomyces japonicus*

Schizosaccharomyces japonicus (syn. *Hasegawaea japonica* en *Octosporomyces japonicus*) is een zogenaamde splijtgist ('fission yeast'). De meeste gisten ('budding yeasts') planten zich asexueel voort doordat een uitstulping (knop) die op een moedercel is ontstaan, zich afsnoert. Hierbij ontstaan er twee ongelijke cellen. Bij splijtgisten zoals *S. japonicus* splitsen de cellen zich echter in het midden waardoor er twee gelijke dochtercellen ontstaan. De gisten die zich op deze manier voortplanten behoren tot het genus *Schizosaccharomyces* (fyllum Ascomycota). Naast *S. japonicus* behoren ook *Schizosaccharomyces pombe*, *Schizosaccharomyces octosporus* en *Schizosaccharomyces cryophilus* tot dit genus.⁴

Hoewel *Schizosaccharomyces* soorten zich normaal gesproken vegetatief (aseksueel) voortplanten, kunnen zij zich onder stikstofarme omstandigheden ook generatief (seksueel) voortplanten. Cellen van verschillende mating-typen fuseren dan, waarna de kernen van deze cellen samensmelten en er meiose plaatsvindt. Hierbij ontstaan afhankelijk van de soort 4 tot 8 ascosporen.⁴

S. japonicus werd in 1931 voor het eerst geïsoleerd uit gefermenteerd aardbeiensap⁵ en wordt aangetroffen op plaatsen met een hoog suikergehalte.⁶ *S. japonicus* kan groeien bij hoge temperaturen (40 °C)⁵ en is geïsoleerd uit druivensap, wijn, druivenmost, perziken in blik, en sap ('slime flux') van

een Gladde iep (*Ulmus carpinifolia*).¹² Recent zijn er publicaties verschenen waarbij *S. japonicus* wordt gebruikt bij de productie van bier (i.e. 'sour beer') en wijn.^{7,8} *S. japonicus* is onder andere in Japan, de Verenigde Staten, Portugal en Italië aangetroffen.¹²

S. japonicus kent niet alleen het eencellige giststadium dat hierboven is beschreven, maar kan daarnaast onder voedingsarme omstandigheden (stikstof gelimiteerd) ook lange filamenteuze hyfen vormen.⁵

5. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft nog niet eerder geadviseerd over *S. japonicus*. De verwante soort *Schizosaccharomyces pombe* is door de COGEM ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1.^{9,10}

6. Classificaties door andere beoordelende instanties

De 'American Type Culture Collection' (ATCC) en het 'Westerdijk Fungal Biodiversity Institute' hebben verschillende *S. japonicus* isolaten ingedeeld op BSL-1.^{11,12}

De inschaling door deze instanties geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

7. Overweging en advies

Wetenschappelijk gezien is de pathogeniteit van een micro-organisme goed aan te tonen. De afwezigheid van pathogeniteit is echter moeilijk te bewijzen. Daarbij worden gevallen van pathogeniteit gepubliceerd, terwijl er nauwelijks wordt gerapporteerd over de apathogeniteit van micro-organismen. Hierdoor is van veel micro-organismen weinig literatuur over apathogeniteit voorhanden.

Voor zover bij de COGEM bekend, zijn er geen publicaties waarin melding wordt gemaakt dat *S. japonicus* pathogeen is voor mensen, dieren of planten. Tevens staat *S. japonicus* niet vermeld de 'Atlas of Clinical Fungi', het naslagwerk met alle klinisch relevante schimmels of in 'online databases' met informatie over schimmelsoorten die ziekten bij planten veroorzaken.^{13,14,15,16,17,18} Op basis van de gepubliceerde genoomsequentiegegevens, lijkt *S. japonicus* geen bekende toxinegenen of genen die met pathogeniteit geassocieerd zijn, te bezitten.¹⁹ Er zijn diverse publicaties waarin *S. japonicus* als een niet-pathogene schimmel wordt aangeduid.^{5,6,20}

Alles in overweging nemende adviseert de COGEM *S. japonicus* (syn. *Hasegawaea japonica* en *Octosporomyces japonicus*) in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Tevens is zij van oordeel dat *S. japonicus* in aanmerking komt voor plaatsing op lijst A1 van Bijlage 2 van de Regeling ggo.

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2015). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2018-10-01> (bezocht: 29 november 2018)
2. James TY *et al.* (2006). Reconstructing the early evolution of fungi using a six-gene phylogeny. *Nature* 443: 818-822
3. Hawksworth DL (2011). A new dawn for the naming of fungi: impacts of decisions made in Melbourne in July 2011 on the future publication and regulation of fungal names. *IMA Fungus* 2:155-162
4. Helston RM *et al.* (2010). *Schizosaccharomyces cryophilus* sp. nov., a new species of fission yeast. *FEMS Yeast Res.* 10(6): 779-786
5. Niki H (2014). *Schizosaccharomyces japonicus*: the fission yeast is a fusion of yeast and hyphae. *Yeast* 31: 83-90
6. Vaughan-Martini A & Martini A (2011). *Schizosaccharomyces* Lidner (1893). *The Yeasts, a taxonomic study*. Elsevier B.V.
7. Osburn K *et al.* (2018). Primary souring: A novel bacteria-free method for sour beer production. *Food microbiology* 70: 76-84
8. Romani C *et al.* (2018). *Schizosaccharomyces japonicus*: A polysaccharide-overproducing yeast to be used in winemaking. *Fermentation* 4, 14; doi:10.3390/fermentation4010014
9. COGEM (2014). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal apathogene en pathogene schimmels. COGEM advies CGM/141218-03
10. COGEM (2018). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal apathogene en pathogene schimmels. COGEM advies CGM/180430-01
11. American Type Culture Collection (ATCC). *Schizosaccharomyces japonicus* [https://www.lgcstandards-atcc.org/search#q=schizosaccharomyces%20japonicus&sort=relevancy&f:contentTypeFacetATCC=\[Products\]](https://www.lgcstandards-atcc.org/search#q=schizosaccharomyces%20japonicus&sort=relevancy&f:contentTypeFacetATCC=[Products]) (bezocht: 22 november 2018)
12. Westerdijk Fungal Biodiversity Institute. *Schizosaccharomyces japonicus* <http://www.westerdijkinstitute.nl/Collections/Biolomics.aspx?Table=CBS%20strain%20database> (bezocht: 22 november 2018)
13. The Atlas of Clinical Fungi. Version 4.1.4 <http://atlas.clinicalfungi.org/AtlasOnline/> (bezocht: 122 november 2018)
14. USDA ARS Fungal database. <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/> (bezocht: 22 november 2018)
15. American Phytopathological Society (APS). www.apsnet.org/SearchCenter/Pages/results.aspx (bezocht: 22 november 2018)
16. Animal and Plant health Inspection Service (APHIS). www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome (bezocht: 22 november 2018)
17. Plant-Host Interactions, PHI-base. <http://www.phi-base.org/searchFacet.htm?queryTerm=Schizosaccharomyces+japonicus> (bezocht: 22 november 2018)
18. Q-Bank. Comprehensive databases on quarantine plant pests and diseases. www.q-bank.eu/Fungi/ (bezocht: 22 november 2018)

19. Rhind N *et al.* (2011). Comparative functional genomics of the fission yeasts. *Science* 332(6032): 930-936
20. Enczi K *et al.* (2007). Morphology transition genes in the dimorphic fission yeast *Schizosaccharomyces japonicus*. *Antonie van Leeuwenhoek* 92: 143-154